

ISSN 0104-6187



Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA
Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia-CNPAB



PROTOCOLO OPERACIONAL PARA CONTROLE DE CONTAMINAÇÃO EM FLUXO LAMINAR

CNPAB
Seropédica, RJ
Dezembro/1997

ISSN 0104-6187



Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA
Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia-CNPAB



PROTOCOLO OPERACIONAL PARA CONTROLE DE CONTAMINAÇÃO EM FLUXO LAMINAR

**Norma G. Rumjanek; José R. de A. Ribeiro; Gustavo R. Xavier;
Rojane C. Peixoto**

**CNPAB
Seropédica, RJ
Dezembro/1997**

Exemplares desta publicação podem ser solicitadas à

Embrapa-Agrobiologia

Antiga Rodovia Rio/São Paulo

Telefone: (021)682-1086; (021)682-1500

Fax: (021)682-1230

Caixa Postal 74505

23851-970 Seropédica, RJ

e-mail: agrob@cnps.embrapa.br

Comitê de Publicações

Helvécio De-Polli(Presidente)

Johanna Döbereiner

José Ivo Baldani

Paulo Augusto da Eira

Norma Gouveia Rumjanek

Sebastião Manhães Souto

Dorimar dos Santos Felix(Bibliotecária)

RUMJANEK, N.G.; RIBEIRO, J.R. de A.; XAVIER, G.R.; PEIXOTO, R.C. **Protocolo operacional para controle de contaminação em fluxo laminar.** Seropédica: ***Embrapa-Agrobiologia***, Dez. 1997. 6p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 44).

1. Bactéria. 2. Processamento. 3. Equipamento de laboratório. 4. Contaminação bacteriana. I. Ribeiro, J.R. de A., colab. II. Xavier, G.R., colab. III. Peixoto, R.C., colab. IV. Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa Agrobiologia (Seropédica, RJ). V. Título. VI. Série.

CDD 579.3

© Embrapa

SUMÁRIO

1. OBJETIVO	4
2. MATERIAL	4
2.1. REAGENTES	4
2.2. EQUIPAMENTOS	4
2.3. VIDRARIAS	4
3. PROCEDIMENTO	4
4. CADERNO DE ANOTAÇÕES.....	6
5. RESULTADOS.....	6
6. ATUALIZAÇÃO.....	6

PROTOCOLO OPERACIONAL PARA CONTROLE DE CONTAMINAÇÃO EM FLUXO LAMINAR

N.G. Rumjanek¹, J.R. de A. Ribeiro², G.R. Xavier³, R.C. Peixoto⁴

1. OBJETIVO

Estabelecer uma rotina de controle das condições de esterilidade de capelas de fluxo laminar, visando minimizar a exposição do usuário a materiais tóxicos.

2. MATERIAL

2.1. REAGENTES

Meios de cultura sólido normalmente utilizados no laboratório (200ml);
Formol (CH₂O);
Permanganato de potássio (KMnO₄);
Álcool 70% (etanol comercial diluído);

2.2. EQUIPAMENTOS

Estufa de crescimento
Fluxo laminar

2.3. VIDRARIAS

Placas de Petri;

3. PROCEDIMENTO

3.1. Realizar processo normal de trabalho em fluxo laminar, ligar o fluxo de ar, esterilizar as superfícies com álcool 70% e expor ao UV por 20 minutos, antes de iniciar o teste;

3.2. Verter os diversos tipos de meio de cultura, em placa de Petri e aguardar a solidificação;

3.3. Preparar 8 placas de cada meio, manter 2 placas como controle, abrir 2 placas durante 2 minuto na região mais protegida do fluxo (no caso de fluxo horizontal a região mais próxima da tela e em torno da chama). Abrir 2 placas durante 2 minutos na região mais externa do fluxo e mais distante da chama, e abrir 2 placas durante 2 minutos numa região de trabalho próxima ao fluxo;

3.4. Incubar as placas em estufa a temperatura normalmente utilizada no crescimento celular no meio específico;

¹ Farmacêutica, PhD., Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia, km 47, Caixa Postal 74505, CEP 23851-970, Seropédica, RJ.

² Bolsista de Pós-graduação, MSc, CNPq

³ Bolsista de Aperfeiçoamento, CNPq

⁴ Assistente de Pesquisa, Embrapa-CNPAB

3.5. Observar o aparecimento de contaminantes após 1, 4 e 14 dias. Manter um registro de acompanhamento, diferenciando bactérias, fungos e actinomicetos;

3.6. Em caso de contaminação, se possível detectar o agente causador, pois algumas formas de organismo são resistentes até mesmo ao processo de esterilização convencional;

3.7. Realizar o teste a cada 15 dias;

3.8. Em caso de contaminação, proceder da seguinte forma:

3.8.1. Em caso de suspeita de contaminação, quando estiver acontecendo em meios do trabalho de rotina no laboratório e que se suspeite que seja do fluxo laminar, é melhor fazer uma esterilização simples:

Colocar 30ml de formol concentrado em placa de Petri dentro do fluxo laminar desligado, fechar a parte da frente com plástico e deixar por uma noite. No dia seguinte arejar bem o laboratório e realizar novo teste.

3.8.2. Em caso de contaminação confirmada através do teste de meio de cultura:

Colocar 20ml de formol em placa de Petri dentro do fluxo laminar desligado e adicionar 2,5g de permanganato de potássio, fechar a frente do fluxo com um plástico e deixar durante um fim de semana. Após este período arejar bem o laboratório e realizar novo teste.



ATENÇÃO: Cuidado ao adicionar o permanganato de potássio. Manter distância pois o produto é reativo, havendo liberação de ácido fórmico gasoso altamente tóxico. Fechar o fluxo e evacuar a sala imediatamente. É indispensável o uso de luva e máscara contra gases tóxicos. O laboratório deverá ficar interditado durante o período de tratamento.

Obs.: 1: É recomendável que cada usuário, tenha sempre 1 ou 2 placas extras contendo meio que está sendo utilizado que possam servir ao final do trabalho para determinar uma possível contaminação presente durante o manuseio. Abrir as placas durante 2 minutos na região mais protegida do fluxo. Colocar na estufa de crescimento junto com o restante do experimento.

Obs.: 2: Verificar as condições de limpeza e assepsia da estufa de crescimento. Regularmente passar álcool 70% na parte interna da estufa.

4. CADERNO DE ANOTAÇÕES

Abaixo segue um modelo para o caderno de anotações que deve servir como um diário do fluxo laminar onde se faz anotações sobre os tipos de meio utilizados, o responsável que realizou o teste, a descrição do contaminante quando aparecer, tais como, tipo de colônia, velocidade de aparecimento e outras informações pertinentes. Neste caderno podem ser anotadas as trocas dos filtros, que devem ser realizadas a cada três meses.

Teste nº:

Data:

Responsável:

Meio de cultura:		Unidade formadora de colônia (UFC) / placa								
		1 dia			4 dias			14 dias		
Fluxo laminar		B	F	A	B	F	A	B	F	A
	Região interna									
	Região mais externa									
Ambiente externo										

B – bactéria; F – fungo; A – actinomiceto.

Observações sobre o contaminante:

Laudos:

5. RESULTADOS

Os resultados de contaminação devem ser expressos em Unidade formadora de colônia (UFC) / placa

6. ATUALIZAÇÃO

DESCRIÇÃO	REVISÃO	RESPONSÁVEL	DATA

ELABORAÇÃO:

Norma Gouvêa Rumjanek,
José Roberto de Assis Ribeiro,
Gustavo Ribeiro Xavier &
Rojane Chapeta Peixoto

APROVAÇÃO:
